

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans termasuk kelompok *Streptococcus viridans* yang merupakan anggota flora normal rongga mulut yang memiliki sifat α -hemolitik dan komensal oportunistik. *Streptococcus mutans* jika berada pada lingkungan menguntungkan dan terjadi peningkatan populasi dapat berubah menjadi patogen (Samaranayake, 2006; Jawetz dkk., 2005). *Streptococcus mutans* merupakan bakteri gram positif (+), bersifat *non motil* (tidak bergerak), berdiameter 1-2 μm , bakteri anaerob fakultatif. Memiliki bentuk kokus tunggal bulat atau bulat telur, tersusun seperti rantai dan tidak membentuk spora. Hal tersebut digambarkan pada gambar 2.3 (Samaranayake, 2006).



Gambar 2.1 *Streptococcus* pada perbesaran 10 μm (Samaranayake, 2006)

Klasifikasi *Streptococcus mutans* menurut Bergey dalam Capuccino (2000) *Streptococcus mutans* termasuk dalam kingdom *Monera*, pada

divisi *Firmicutes* dan termasuk kelas *Bacilli*. *S. mutans* masuk dalam Ordo *Lactobacilales* Familiya *Streptococcaceae* pada Genus *Streptococcus* serta Spesies *Streptococcus mutans*.

Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu sekitar 18°C–40°C. *Streptococcus mutans* biasanya ditemukan pada plak dan rongga gigi manusia yang luka, dan menjadi bakteri yang paling kondusif menyebabkan karies untuk enamel gigi. *Streptococcus mutans* bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam, asidurik, mampu tinggal pada lingkungan asam, dan menghasilkan suatu polisakarida yang lengket disebut dextran. Oleh karena kemampuan ini, *Streptococcus mutans* bisa melekat dan mendukung perlekatan bakteri-bakteri lain di enamel, pertumbuhan bakteri asidodurik yang lainnya, dan menghasilkan asam yang dapat melarutkan enamel gigi (Jawetz dkk., 2005).

2.2 Anggur (*Vitis vinifera*)

2.2.1 Klasifikasi Anggur

Buah yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis buah anggur (*Vitis vinifera*) dengan klasifikasi sebagai berikut (Plantamor, 2008). Termasuk dalam Kingdom plantae (tumbuhan), Sub kingdom *Tracheobionta* (Tumbuhan Berpembuluh), Super divisi *Spermatophyta* (Menghasilkan Biji), divisi *Magnoliophyta* (berbunga), kelas *Kagnoliopsida* (berkeping dua), sub kelas *Rosidae*, ordo *Rhamnales*, famili *Vitaceae*, genus *Vitis*, Jenis *Vitis vinifera*

Ada beberapa macam spesias anggur lain yaitu, *Vitis labrusca*, *Vitis rotundifolia*, *Vitis lincecumii*, *Vitis mirticola*, *Vitis mustangensis*, *Vitis x novae-angliae*, *Vitis palmata*, *Vitis Riparia*, *Vitis Acerifolia*, *Vitis aestivalis*, *Vitis*

amurensis, *Vitis arizonica*, *Vitis x burquina*, *Vitis californica*, *Vitis rupeetris*,
Vitis shuttleworthii, *Vitis tiliifolia*, *Vitis vulpina*, *Vitis, x campinii*, *Vitis cinera*,
Vitis x doaniana, *Vitis girdinia*, *Vitis x labruscana*.



Gambar 2.2 Gambar Anggur (*Vitis vinifera*)

2.2.2 Struktur Tanaman Anggur

Anggur merupakan tanaman perdu merambat. Tanaman ini bisa memanjang sampai 15 meter. Secara umum, Daun anggur berbentuk bulat bercangap dengan pinggir bergerigi dan ujung melancip. Namun, berbagai varietas anggur mempunyai bentuk daun yang berbeda-beda. Batang tanaman anggur panjangnya dapat tumbuh sampai puluhan meter. Akar anggur bisa menembus tanah sampai 1,5 meter, bahkan 3 meter dalamnya (Setiadi, 2007). Bunga tanaman anggur tersusun dalam malai. Setelah menjadi buah berbentuk bulat dan atau lonjong dengan ukuran 1-2,5 cm (Wiryanta, 2004). Buah anggur mempunyai bagian yang terdiri dari kulit buah, daging buah, dan biji buah. Isi kulit sekitar 5-12% dari ukuran buah. Daging buah sebagian besar yaitu 80-90% berisi air sedangkan 0-5%

berupa biji buah (jumlahnya 1-5 biji), dan sisanya berupa serat. Buah anggur yang sudah tua akan mengeluarkan lapisan lilin. Lapisan lilin ini berfungsi sebagai pelindung buah dari rembesan air, goresan, atau semacamnya sehingga tidak gampang luka atau membusuk (Setiadi, 2007).

2.2.3 Kandungan Buah Anggur (*Vitis vinifera*)

Menurut penelitian Manggiasi dan Yanita (2007) kandungan jus buah anggur (*Vitis vinifera*) yang memiliki efek farmakologi terhadap bakteri adalah fenol, tanin, flavonoid, antosianin, resveratrol.

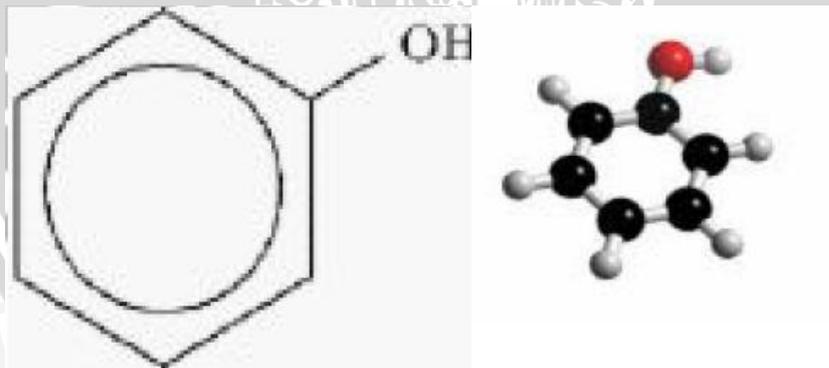
2.2.3.1 Fenol

Senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan yang mempunyai ciri sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksi. Senyawa fenol umumnya ditemukan dalam vakuola sel dan cenderung mudah untuk larut dalam air. Senyawa fenol dapat berikatan dengan glukosa sebagai glikosida (Harborne, 1984).

Dalam dunia kedokteran senyawa fenol telah lama dikenal sebagai zat antiseptik. Penggunaannya dapat dipercaya sebagai pembunuh bakteri (bakterisidal). Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol (Harborne, 1984). Aktivitas antibakteri senyawa fenol yaitu pada konsentrasi rendah. Fenol bekerja dengan merusak membran sitoplasma dan dapat menyebabkan kebocoran isi sel, sedangkan pada konsentrasi tinggi zat tersebut berkoagulasi dengan protein seluler. Aktivitas tersebut sangat efektif ketika bakteri dalam tahap pembelahan, dimana lapisan fosfolipid di sekeliling sel sedang dalam kondisi yang sangat tipis

sehingga fenol dapat berpenetrasi dengan mudah dan merusak isi sel. Cara kerja fenol sebagai antibakteri yaitu fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur tiga dimensi protein terganggu dan terbuka sehingga struktur acak tanpa adanya kerusakan pada struktur senyawa kovalen (Rahayu, 2000; Dea 2003). Struktur kimia senyawa fenol seperti pada gambar 2.5. Hal ini menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, serta pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu, sehingga makromolekul dan ion dapat keluar dari sel. Kemudian sel bakteri akan kehilangan bentuknya dan terjadilah lisis sehingga dapat disimpulkan bahwa fenol memiliki kemampuan untuk mendenaturasi protein dan merusak membran sel (Rhodes, 2004).

Salah satu tumbuhan yang memiliki kandungan senyawa fenol cukup tinggi adalah anggur. Beberapa senyawa fenol yang terkandung dalam anggur yaitu flavonoid, tanin, antosianin dan reveratol (Rhodes, 2004).



Gambar 2.3 Struktur kimia senyawa Fenol (Harborne, 1987)

2.2.3.2 Tanin

Tannin merupakan salah satu senyawa sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan. Senyawa sekunder adalah senyawa yang tidak terlibat langsung dalam proses metabolisme tumbuhan tersebut. Tanin

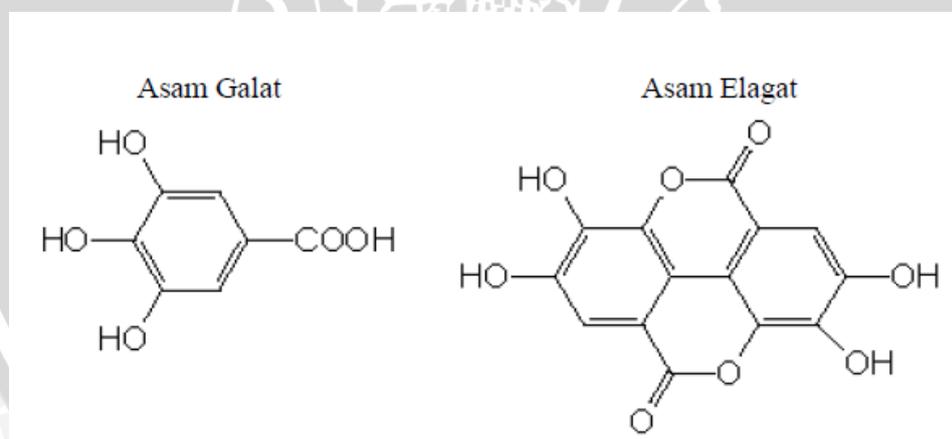
merupakan senyawa fenolik yang mempunyai ciri adanya cincin aromatik dengan satu atau dua gugus hidrosil kompleks yang memiliki berat molekul 500-3000 (Hermawan, 2003).

Berdasarkan perbedaan struktur molekul, Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terkondensasi dan tanin yang dapat dihidrolisis. Tanin yang terhidrolisis mudah dihidrolisis oleh asam lemah atau basa lemah menghasilkan karbohidrat dan asam fenolat. Terdapat dua macam tanin terhidrolisis yaitu gallotannin (asam galat) dan ellagitannin (asam elagat), gambar struktur kimianya yaitu seperti pada gambar 2.6. Sedangkan tanin terkondensasi atau proantosianidin merupakan polimer dari 2 hingga 50 unit flavonoid yang dihubungkan oleh rantai karbon sehingga tidak mudah terhidrolisis. Terdapat dua macam tanin terkondensasi yaitu prosianidin dan prodelphinidin. Gambar struktur kimia tanin yang terkondensasi ditunjukkan pada gambar 2.7. Prosianidin terdiri dari epicatechin dan catechin. Prodelphinidin terdiri dari epigallocatechin dan galocatechin (Rhodes, 2004). Kelompok tanin yang paling dominan terdapat dalam tanaman adalah tanin terkondensasi (Pambayun, 2007).

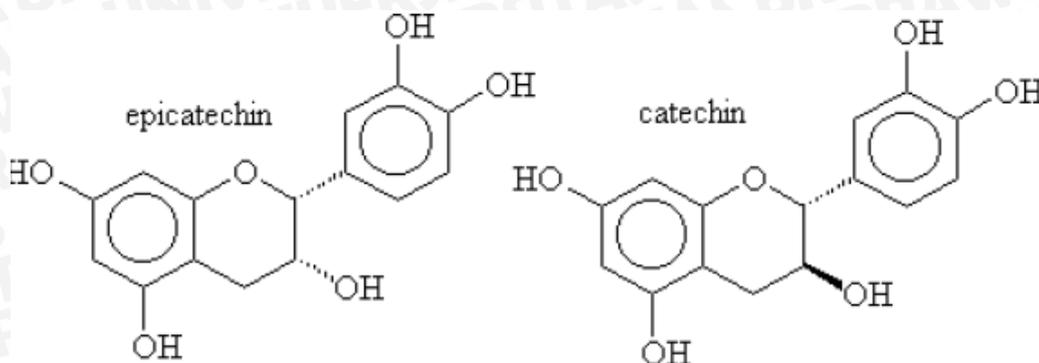
Tanin memiliki manfaat sebagai antibakteri. Melalui beberapa penelitian tanin terbukti efektif terhadap *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escheria coli*, *Citrobacter freundii* dan *Listeria monocytogenes* (Rhodes, 2004). Secara garis besar mekanisme yang diperkirakan adalah sebagai berikut toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks

ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri (Akiyama, 2001).

Tanin dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati. Tanin juga mempunyai daya antibakteri dengan cara mempresipitasi protein sebagaimana kerja fenol (Juliantina, 2007). Tanin memiliki afinitas yang tinggi terhadap golongan logam. Zat besi adalah salah satu golongan logam yang dibutuhkan untuk metabolisme makhluk hidup, misalnya dalam pembentukan sel darah merah. Oleh karena itu, tanin juga sering dipakai untuk obat antihemorragi. Namun, konsumsi diet tinggi tanin dapat menyebabkan penyakit defisiensi seperti anemia (hagerman, 2002).



Gambar 2.4 Struktur kimia tanin Terhidrolisasi (Rhodes, 2004)



Gambar 2.5 Struktur kimia tanin Terkondensasi Golongan Prosiyanidin (Rhodes, 2004)

2.2.3.3 Flavonoid

Senyawa flavonoid adalah kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, dan biru. Flavonoid ditemukan dalam tumbuhan sebagai zat berwarna kuning (Bakti, 2010). Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri atas 15 atom karbon, dimana dua rantai Benzena (C_6) berikatan dengan propana (C_3) membentuk susunan $C_6-C_3-C_6$ seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.8 (Lenny, 2007). Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, tepung sari, nektar, bunga dan biji. Kira-kira 2% dari seluruh karbon yang di fotosintesis oleh tumbuh-tumbuhan diubah menjadi flavonoid atau senyawa yang berkaitan erat dengannya. Jenis flavonoid yang ditemukan pada tumbuhan angiospermae adalah flavon, flavonol, isoflavon, proantosianidin dan atosianin. Flavonoid memberikan perlindungan pada tanaman terhadap adanya stres lingkungan, sinar UV, serangga, jamur, virus dan bakteri.

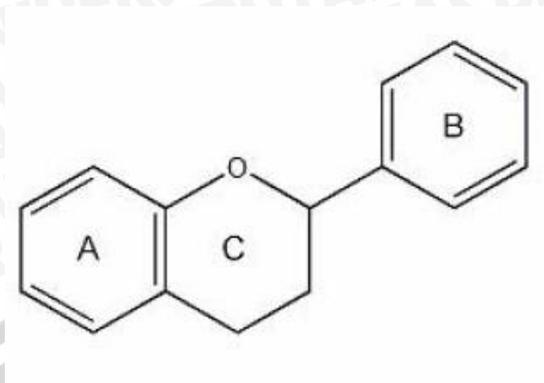
Flavonoid merupakan gabungan polifenol sehingga memiliki sifat kimia fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa.

Karena memiliki sejumlah gugus hidroksil, flavonoid merupakan senyawa polar yang dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, butanol, aseton air dan sebagainya. Flavonoid terbukti sebagai respon biologis tubuh terhadap alergen, virus dan karsinogen. Kemampuan flavonoid untuk menjalankan fungsi antioksidannya bergantung pada struktur molekulnya, posisi hidroksil memiliki peranan dalam fungsi antioksidan dan aktivitas menyingkirkan radikal bebas (Willson, 1998)

Flavonoid berperan sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran bakteri. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang bersifat koagulator protein (Ajizah, 2004; Akiyama, 2001).

Aktivitas biologis senyawa flavonoid dilakukan dengan merusak dinding sel yang terdiri atas asam amino dan lipid yang akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam sel inti (Gunawan, 2009).

Flavonoid mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga struktur tersier protein terganggu, dan protein tidak dapat berfungsi lagi maka terjadi denaturasi protein dan asam nukleat. Denaturasi tersebut menyebabkan koagulasi protein dan mengganggu integritas membran dan fungsi fisiologis bakteri. Metabolisme yang terganggu akan mengakibatkan rusaknya sel secara permanen karena tidak tercukupinya kebutuhan energi (Agustin, 2007).



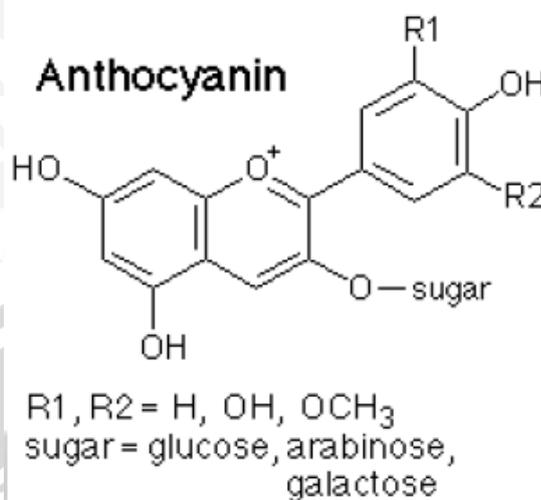
Gambar 2.6 Struktur kimia dasar dari Flavonoid (Lenny, 2007)

2.2.3.4 Antosianin

Antosianin merupakan pigmen yang tersebar luas dalam tumbuhan, yang berfungsi sebagai antioksidan yang berfungsi melindungi tumbuhan dari radikal-radikal bebas yang dihasilkan oleh sinar UV dan polinator yang berguna bagi proses penyerbukan tanaman.

Antosianidin adalah glikogen antosianin yang terbentuk bila antosianin dihidrolisis dengan asam. Ada lima macam antosianidin yang terdapat pada anggur, yaitu delphinidin, petunidin, malvidin, sianidin dan peonidin. Masing masing antosianidin memiliki keragaman dalam hal sifat gulanya, jumlah satuan gula/mono-, di- atau triglikosida dan letak ikatan gula/biasanya pada hidroksi atau 3- dan 5- hidroksi, gambar struktur kimianya ditunjukkan pada gambar 2.9 (Harborne, 1987).

Antibakteri dari antosianin terbukti efektif terhadap beberapa mikroorganisme. Sianidin dan delphinidin yang terdapat pada jus anggur mengurangi pertumbuhan *Escheria coli* dan *Lactobacillus acidhopilus*. Antosianin dapat menghinibisi oksidasi glukosa dan mengikat zat besi yang dibutuhkan oleh bakteri (Rhodes, 2004).



Gambar 2.7 Struktur kimia senyawa Antosianin (Lenny, 2007).

2.2.3.5 Resveratrol

Merupakan golongan fitoaleksin stilbena yang terdapat pada beberapa tanaman. Fitoaleksin adalah antibiotik yang diproduksi oleh tanaman sebagai mekanisme pertahanan terhadap stres akibat infeksi mikroorganisme fitopatogenik (misalnya jamur) atau radiasi sinar ultraviolet (Setiadi, 2007). Resveratrol antara lain terdapat pada kulit dan biji anggur, *berry*, kacang dan akar Huzhang / *Polygonum cuspidatem* (Le blanc, 2007).

Resveratrol memiliki konfigurasi cis- dan trans-, Struktur kimia resveratrol pada gambar 2.10. Resveratrol yang terdapat pada anggur umumnya adalah transresveratrol. Konsentrasi resveratrol dalam buah anggur varietas Probolinggo adalah $0.167 \pm 0.029 \mu\text{g/g}$ (Rosnawati, 2007).

Resveratrol biasanya terdapat pada buah-buahan yang berwarna ungu yaitu anggur, *repsberries*, *mulberries*, dan *plum*. Resveratrol biasanya terdapat pada kulit ataupun bijinya. Kulit anggur segar mempunyai kandungan reveratrol sebanyak 40 mg per liter ekstrak.

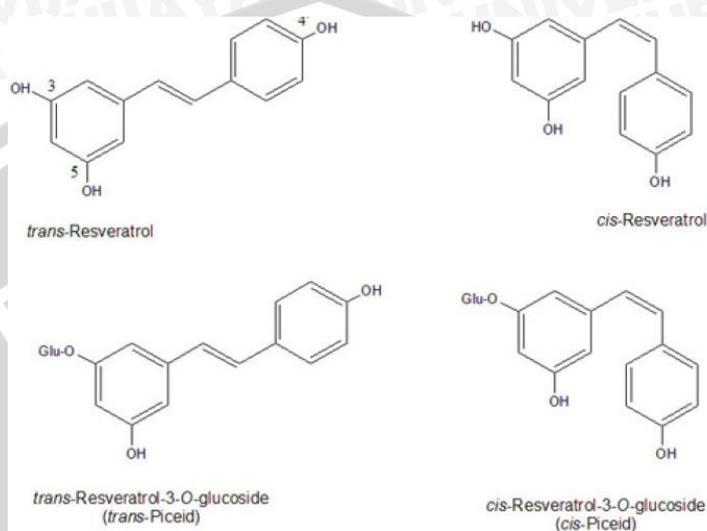
Kandungan resveratrol pada wine dan jus anggur pada 5 ons gelas yaitu pada tabel berikut ini (Roy, 2005; Rosnawati, 2007).

Tabel 2.1 kadar resveratrol pada wine dan jus anggur

Jenis Wine	Total reveratrol (miligram per 5 ons gelas)
<i>Muscadines Wine</i>	2,12-6,00
<i>Red Wines (global)</i>	0,20-1,07
<i>Red Wines (Spanish)</i>	0,29-1,89
<i>Red Grape juices (Spanish)</i>	0,17-1,30
<i>Pinot Noir</i>	0,06-0,53
<i>Rose Wines (Spanish)</i>	0,06-0,30
<i>White Wine (Spanish)</i>	0,01-0,27

Resveratrol bermanfaat bagi kesehatan, terutama dalam pencegahan penyakit jantung. Resveratrol terbukti dapat menghambat *endothelin-1* (ET-1). ET-1 disintesis oleh *endothelial* yang merupakan salah satu komponen penyebab penyakit jantung. Sebuah publikasi dari The Northeastern Ohio Universities collage of Medicine manunjukkan bahwa resveratrol pada buah anggur sangat bermanfaat menghambat Angiotensin II. Angiotensin II yang terhambat dapat mencegah terjadinya hipertensi. Resveratrol juga bermanfaat sebagai mencegah penyakit kanker. Publikasi pada Journal of Applied Toxicology juli 2003 menunjukkan bahwa resveratrol dapat menghambat *benzopyrene* yaitu senyawa yang dapat menyebabkan kanker. Resveratrol juga bersifat sebagai anti-radang karena dapat menghambat produksi COX-2, suatu

faktor pendukung terjadinya radang. Aktivitas antibakteri dari resveratrol efektif terhadap *Nisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Stapylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Atswan, 2008).



Gambar 2.8 : Struktur kimia dasar dari Resveratrol (Rosnawati, 2007).

2.2.4 Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa kimia yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Bahan antibakteri yang baik adalah bahan yang efektif dalam membunuh kuman tetapi tidak mengiritasi jaringan sekitarnya (Newman, 2001).

Antibakteri terdiri dari dua macam, yaitu antiseptic dan desinfektan. Antiseptik merupakan bahan yang digunakan untuk menghambat perkembangbiakan bakteri (bakteriostatik) sedangkan desinfektan tidak hanya dapat menghambat bakteri tetapi juga membunuh bakteri dengan cara menghancurkan dinding selnya/bakteriosidik (Katzung, 2001). Antibakteriostatik menghambat pertumbuhan bakteri sedangkan bakterisida sebenarnya membunuh bakteri. Perbedaan ini biasanya tidak

penting secara klinis selama mekanisme pertahanan penjamu terlibat dalam eliminasi akhir patogen bakteri.

Bakteriostatik memiliki kemampuan menghambat perkembangan bakteri. Perkembangbiakan akan berlangsung bila zat antibakteri telah tiada. Bakterisidik memiliki sifat mematikan bakteri, bakteri tidak dapat pulih lagi, dimana bakteri yang sudah dimatikan tidak dapat berkembangbiak meskipun tidak terkena zat antimikroba (Jawetz *et.al.*,2005).

Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri *in vitro* antara lain pH lingkungan, komponen media, stabilitas obat, suhu, ukuran inokulum, waktu inkubasi dan aktivitas metabolik bakteri (Tanu, 2007). Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba dikenal sebagai kadar hambat minimal (KHM) sedangkan kadar minimal yang diperlukan untuk membunuh mikroba dikenal sebagai kadar bunuh minimal / KBM. Antibakteri tertentu dapat meningkatkan efektivitasnya dari bakteriostatik menjadi bakteriosidik bila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi kadar hambat minimum/KHM (Setiabudy, 2009).

Kadar hambat minimum (KHM) dapat ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan dan endapan pada tabung yang berisi inokulum kuman /metode dilusi tabung atau dengan berkurangnya koloni kuman pada plate agar dibandingkan dengan kelompok kontrol / metode dilusi agar (Dzen, 2003). Kadar bunuh minimum (KBM) ditandai dengan tidak terdapatnya pertumbuhan koloni bakteri atau kurang dari 0.1% *original inoculum* pada media tabung yang berisi inokulum kuman yang telah

dilakukan *streaking* (metode penggoresan) dengan satu ose bahan antimikroba yang tidak menunjukkan kekeruhan (Dzen, 2003).

2.3 Metode Jus Anggur

Jus merupakan suatu cara efektif untuk mengkonsumsi buah atau sayuran. Dengan pembuatan jus seseorang dapat mengkombinasi beberapa macam buah dan sayuran sehingga mendapat berbagai manfaat sesuai yang diinginkan. Hal yang patut diperhatikan dalam mengkonsumsi jus berkaitan dengan kesehatan gigi adalah kandungan glukosa itu sendiri. Namun, menurut Van Loveran dari Academic Centre of Dentistry Amsterdam, konsumsi jus dalam jumlah yang proporsional tidak akan membahayakan kesehatan gigi dengan syarat higienitas oral tetap terjaga dan asupan *fluoride* yang mencukupi (Philip, 2005)

Jus merupakan cara mengkonsumsi buah-buahan yang praktis tanpa harus kehilangan kandungan nutrisi di dalam buah tersebut. Mengkonsumsi dalam bentuk jus lebih baik daripada memakan buahnya langsung, misalnya pada anggur. Hal ini karena dalam proses pembuatan jus, biji juga dihancurkan bersama kulit dan daging buah, sehingga kandungan yang bermanfaat pada biji dan kulit buah anggur tidak terbuang. Salah satu contohnya adalah kandungan fenol. Kandungan fenol ini tertinggi pada biji buah anggur sebesar 62%, pada kulit buah sebesar 33%, pada daging buah sebesar 4%, sedangkan pada *pulp* hanya 1% (Iman dkk., 2007).

Menurut penelitian John Folts, Ph.D, dari *Coronary trombosis Research Labiratory Wisconsin Medical School USA*, efek antiplatelet jus anggur ungu lebih efektif dibandingkan aspirin. Selain itu, jus anggur juga dapat mengoksidasi LDL (*low density Lippoprotein*) yang berbahaya untuk

kesehatan. Just dan Daeschel (2003) membuktikan bahwa efek antibakteri pada jus efektif pada *Escheria coli* dan *Salmonella thypurium*. Demikian pula penelitian Rhodes (2004), berhasil membuktikan keefektifan daya antibakteri jus anggur varietas Ribier terhadap *monocytogenes*.

Cara pembuatan jus yang baik adalah dengan menghancurkan seluruh bagian buah anggur kemudian disaring, sehingga didapat jus tanpa ampas. Jus yang dihasilkan akan berwarna sesuai dengan jenis anggur disebabkan adanya pigmen warna pada anggur yang disebut antosianin (Vinification, 2007).

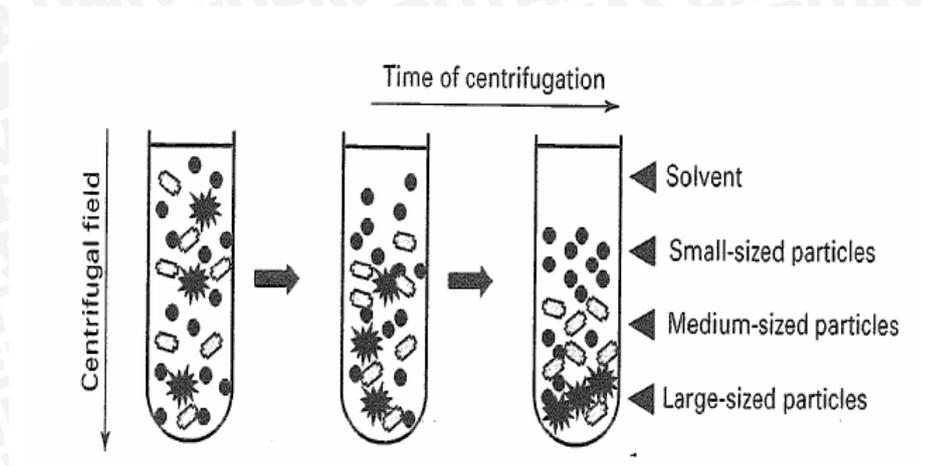
Pada penelitian ini pembuatan jus anggur yaitu dengan buah anggur dimasukkan kedalam *blender*. Jus anggur yang didapat disentrifuge dengan kecepatan 12.000rpm selama 30 menit. Sentrifugasi bertujuan untuk memisahkan antara supernatan dan endapannya. Kemudian diambil supernatannya, sehingga yang diteliti disini adalah supernatannya (Natarini W, 2007).

2.3.1 Sentrifugasi

Sebagian besar senyawa kimia ditemukan di alam dalam keadaan yang tidak murni. Untuk beberapa keperluan seperti sintesis senyawa kimia yang memerlukan bahan baku senyawa kimia dalam keadaan murni atau proses produksi suatu senyawa kimia dengan kemurnian yang tinggi, proses pemisahan perlu dilakukan. Proses pemisahan sendiri dapat diklasifikasikan menjadi proses pemisahan secara mekanis atau kimiawi. Pemilihan jenis proses pemisahan yang digunakan bergantung pada kondisi yang dihadapi. Pemisahan secara mekanis dapat dilakukan kapanpun memungkinkan karena biaya operasinya lebih murah dari

pemisahan secara kimiawi. Untuk campuran yang tidak dapat dipisahkan melalui proses pemisahan mekanis (seperti pemisahan minyak bumi), proses pemisahan kimiawi harus dilakukan. Proses pemisahan suatu campuran dapat dilakukan dengan berbagai metode. Proses pemisahan ini dapat dilakukan dengan 4 cara yaitu sedimentasi, Flotasi, filtrasi dan sentrifugasi.

Isolasi jus Anggur (*Vitis vinifera*) merupakan langkah yang tepat untuk mengetahui komponen jus anggur yang dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Prinsipnya yaitu dengan menggunakan sentrifugasi. sentrifugasi merupakan teknik untuk memisahkan campuran berdasarkan berat molekul komponennya. Molekul yang mempunyai berat molekul besar akan berada dibagian bawah tabung dan molekul ringan akan berada dibagian atas tabung. Hasil sentrifugasi akan menunjukkan dua macam fraksi yang terpisah, yaitu supernatan pada bagian atas dan pelet pada bagian bawah (Campbell *dkk.*, 2002:115). Sentrifugasi adalah pemisahan partikel dari larutan atau suspensi berdasarkan ukuran, bentuk, densitas, viskositas medium dan kecepatan rotor. Pemisahannya memanfaatkan gaya sentrifugal dan gaya gravitasi. Gaya tersebut yang menyebabkan pemisahan partikel. Proses pemisahannya seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.11 (Ghosh,2006; Geankoplis,1993).



Gambar 2.9 Hubungan partikel dengan waktu sentrifugasi (Ghosh, 2006).

Faktor-faktor yang mempengaruhi sentrifugasi yaitu berat molekul yaitu semakin tinggi berat molekul maka kecepatan juga semakin tinggi dan bentuk partikel yaitu partikel yang bentuknya lebih kompak akan bergerak lebih cepat bergerak dibanding partikel tidak kompak dengan berat molekul yang sama, hal ini dipengaruhi oleh gaya gesekan antarpartikel (Yuwono, 2010).

Prinsip sentrifugasi bekerja seperti komedi putar. Prinsipnya yakni dengan meletakkan sampel pada suatu gaya dengan memutar sampel pada kecepatan tinggi, sehingga terjadi pengendapan partikel atau organel-organel sel berdasarkan bobot molekulnya (Artika, 2010). Substansi yang lebih berat akan berada di dasar sedangkan substansi yang lebih ringan akan terletak diatas. Semakin lama waktu sntrifugasi maka partikel yang lebih berat semakin banyak yang dibawah dan partikel yang lebih ringan berada diatas (Miller, 2000).

Substansi dari hasil sentrifugasi terbagi menjadi dua yaitu supernatan dan platelet. Supernatan adalah substansi hasil sentrifugasi yang memiliki bobot jenis yang lebih rendah. Posisi dari substansi ini berada pada lapisan

atas dan warnanya lebih jernih. Sementara platelet adalah substansi hasil sentrifugasi yang memiliki bobot jenis yang lebih tinggi. Posisinya berada pada bagian bawah (berupa endapan) dan warnanya lebih keruh. Pada penelitian ini yang akan digunakan adalah substansi supernatan (Artika, 2010).

2.4 Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu bahan dapat diukur untuk menentukan kemampuan suatu bahan untuk melawan bakteri, mendeteksi mekanisme resistensi bakteri, dan mengukur interaksi bahan dengan mikroorganisme. Ada dua cara untuk menentukan aktivitas antibakteri (Forbes, 2002), yaitu:

2.4.1 Metode Dilusi

Metode dilusi dapat di klasifikasi menjadi 2 yaitu metode dilusi tabung dan metode dilusi agar. Metode Dilusi Tabung cara ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari suatu ekstrak. Prinsip dari metode ini adalah dengan menggunakan satu seri tabung reaksi dan sejumlah sel mikroba yang diuji, kemudian masing-masing tabung diisi obat yang telah diencerkan secara serial, selanjutnya seri tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari ekstrak tersebut. Biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah ekstrak pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni adalah KBM

(Konsentrasi Bunuh Minimal) dari suatu ekstrak terhadap bakteri uji (Dzen *dkk.*, 2003).

Metode yang kedua yaitu metode dilusi agar. Metode dilusi agar pada prinsipnya sama dengan dilusi tabung. Hal yang membedakan antara kedua jenis metode ini adalah pada dilusi agar digunakan medium padat. Antimikroba dicampurkan ke dalam cawan petri yang berisi agar, kemudian agar dibiarkan mengeras dan disimpan didalam kulkas dengan suhu 5°C sampai siap dipakai. Inokulum bakteri ditetaskan pada agar pada hari dilaksanakannya perlakuan sekitar 0.001 ml dengan menggunakan pipet. Inkubasi cawan petri pada suhu 35°C selama 16-18 jam kemudian dapat dilihat hasilnya terdapat pertumbuhan bakteri atau tidak (Dzen *dkk.*, 2003).

2.4.2 Aktivitas Farmakologi

Pada penelitian jus anggur (*Vitis vinifera*) varietas Probolinggo biru terhadap bakteri *Prophiromonas gingivalis* didapatkan nilai KHM pada konsentrasi 12.5%, 25%, 50%. Penelitian lain untuk mengetahui efek antibakteri jus anggur (*Vitis vinifera*) varietas Probolinggo biru terhadap *Streptococcus mutans* juga telah dilakukan oleh Yanita Rikasari pada tahun 2007 didapatkan nilai KHM dan KBM pada konsentrasi 40% dan 50%. Penelitian yang berbeda untuk mengetahui perbandingan efek antibakteri jus anggur Merah (*Vitis vinifera*) terhadap *Streptococcus mutans* juga telah dilakukan oleh Febrina Whidya pada tahun 2007 didapatkan nilai KHM dan KBM 50% dan 100%. Penelitian lain yang dilakukan oleh Manggiasih Metalitri pada tahun 2007 menunjukkan bahwa jus anggur (*Vitis vinifera*) varietas Probolinggo biru memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan nilai KBM pada konsentrasi 60%.